Münster i/W. 1934. No 72 Med Diss.

Aus dem Hygienischen Institut der
Medizinischen Akademie in Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. P. Manteufel

Untersuchungen eines bisher unbekannten Virus

bei einer übertragbaren Kanarienvogelkrankheit auf seine Filtrierbarkeit

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde durch die Hohe Medizinische Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster in Gemeinschaft mit der Medizinischen Akademie zu Düsseldorf

vorgelegt von
Heinz Gollub, Marburg

1934

Buchdruckerei Ridder, Bln.-Oberschöneweide

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Akademie in Düsseldorf und Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster

gez. Schmidt
Rektor
der Medizinischen
Akademie Düsseldorf

gez. Esch
Dekan
der Medizinischen
Fakultät Münster

gez. Kikuth
1. Berichterstatter

gez. Jötten
2. Berichterstatter

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547224_0161

Einleitung

Im Jahre 1931 fand Kikuth bei mit Vogelmalaria infizierten Kanarienvögeln ein bisher unbekanntes filtrierbares Virus, das bei der experimentellen intramuskulären Ueberimpfung eine hohe Pathogenität besaß und eine Virulenzsteigerung der gleichzeitig vorhandenen Malariainfektion zur Folge hatte.

Die ersten Beschreibungen über dieses von Kikuth entdeckte Virus sind in einer gemeinsamen Arbeit von Kikuth und Gollub niedergelegt worden, in welcher bereits in zusammenfassender Form einzelne Teilergebnisse meiner vorliegenden experimentellen Untersuchungen berücksichtigt worden sind.

Allgemeine Symptome

Das Virus löst bei Kanarienvögeln, wenn es künstlich durch Injektion intramuskulär übertragen wird, ein sehr charakteristisches Krankheitsbild aus.

In den ersten 4 bis 6 Tagen sind die Vögel munter und zeigen keinerlei krankhafte Erscheinungen, so daß die kaum von den nicht infizierten Tieren zu unterscheiden sind. Dann erst machen sich die ersten Krankheitszeichen bemerkbar. Die Munterkeit der Tiere läßt nach, sie sitzen apathisch auf der Stange, zeigen verringerte Freßlust und sträuben das Gefieder. Drei bis vier Tage vor dem Tode macht sich die Krankheit in ihrer ganzen Stärke bemerkbar. Wie in Schlafstellung stecken sie den Kopf seitwärts unter einen Flügel, wobei das Gefieder maximal gesträubt ist. So verharren sie, bis sie durch zunehmende Schwäche gezwungen werden, die Stange zu verlassen und sich zu Boden zu ducken. In diesem Zustande schnappen die Tiere öfters nach Luft und aus dem Schnabel fließt

hin und wieder eine klare, gelbliche, seröse Flüssigkeit, was meistens den bevorstehenden Tod anzeigt.

Außer diesen beschriebenen Krankheitszuständen werden keine anderen beobachtet. Es bestehen weder Erregungszustände noch Lähmungen, auch bleibt die Funktionsfähigkeit des Intestinaltraktus normal.

Die Inkubationszeit dauert bei der intramuskulären Ueberimpfung 4 bis 6 Tage.

> Technik der Ueberimpfung: zur intramuskulären Ueberimpfung entnehme ich 3 bis 4 Tropfen infektiöses Blut aus der Flügelvene eines kranken Vogels und verdünne es mit 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Diese Lösung injezierten wir meist in die linke Brustmuskulatur des Versuchstieres. Die Tiere zeigten kurz nach der Injektion einen kleinen Shock, saßen regungslos auf der Stange, erholten sich aber meistens schon nach einer halben Stunde und waren von den nicht infizierten Tieren kaum zu unterscheiden, höchstens daß die Injektionsstelle leicht ödematös angeschwollen war.

Bei dieser Anordnung erhält man ziemlich gleichmäßige Ergebnisse. Die Tiere starben zwischen dem siebenten und zwölften Tage nach der Ueberimpfung, im Durchschnitt am neunten Tage.

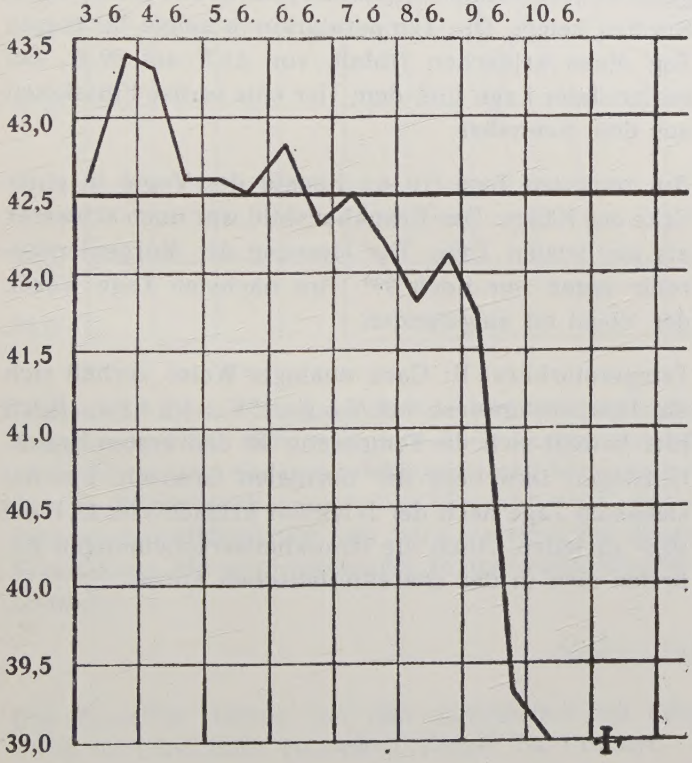
Außer der parenteralen Infektion ist auch, wie Kikuth durch seine Versuche feststellte, eine perorale möglich.

> Kikuth mischte dem Futter der Vögel eine Emulsion von virushaltigen verriebenen Organen oder einige Tropfen Blut kranker Tiere bei.

Das Virus konnte bei den auf diese Weise infizierten Vögeln durch intramuskuläre Injektion des Herzblutes wieder einwandsfrei herausgezüchtet werden. Nur verlängerte sich die Inkubationszeit wie Krankheitsdauer bei den peroral infizierten Vögeln wesentlich. Bei einem Versuch starb der Vogel erst nach 54 Tagen.

Besonders eingehend beschäftigte ich mich mit der Temperaturkurve der erkrankten Vögel. Auffallend ist, daß eine Temperatursteigerung während des ganzen Krankheitsverlaufes nicht zu beobachten ist. Bis wenige Tage vor dem Tode bestehen überhaupt keine Abweichungen von der Norm. Erst wenn die Tiere einen schwerkranken Eindruck machen, sinkt die Temperatur kritisch ab, so daß ausgesprochene Untertemperaturen von 37° und 38° zur Beobachtung kommen. Bei gesunden Kanarienvögeln bewegt sich die Temperaturkurve, wie zahlreiche Messungen ergeben haben, zwischen 42° u. 43°. Der Uebersicht halber gebe ich 2 Temperaturenkurven von künstlich intramuskulär mit dem Virus infizierten Kanarienvögeln wieder.

Vogel 11457a (inf. am 2. 6. 31)

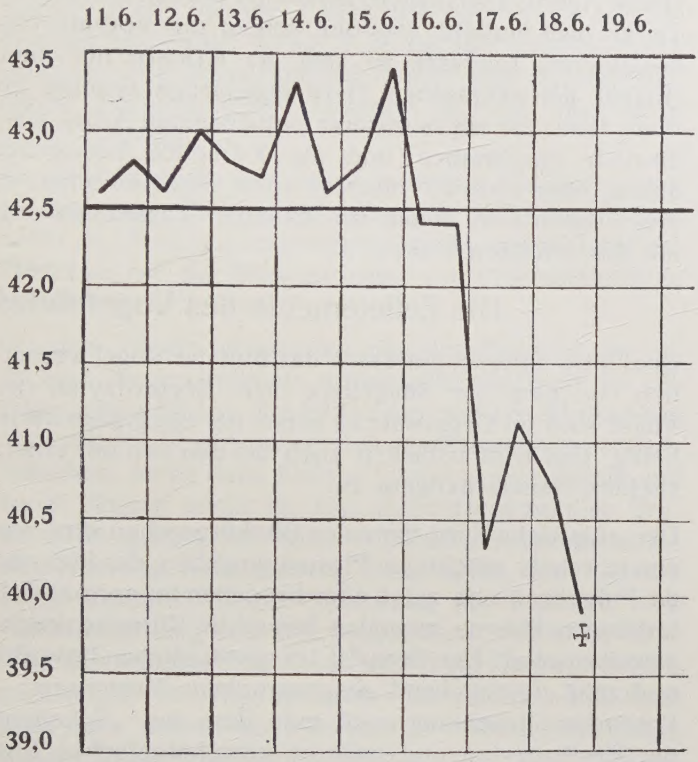


Der Vogel 11457a wurde am 2. 6. 31 mit 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 4 Tropfen Blut, die aus der Flügelvene eines schwerkranken Vogels entnommen wurden (s. Technik oben), intramuskulär infiziert. Nach 5 Tagen machte der Vogel einen kranken Eindruck. Seine Freßlust ließ nach, er saß apathisch auf der Stange. Wie aus der Kurve ersichtlich, bewegte sich die Temperatur noch immer innerhalb der normalen Grenzen. Am 9. 6. befand sich der Vogel auf dem Boden des Käfigs, das Gefieder sträubte sich, den Kopf hielt er unter einem Flügel verborgen. Der Vogel machte kaum noch Flucht- oder Abwehrbewegungen. Die Injektionsstelle an der Brustmuskulatur war stark geschwollen, ödematös, gelblich gefärbt und mit braunen Kursten belegt. Die Temperaturkurve zeigte für diesen Tag einen kritischen Abfall, von 41,7° auf 39,3°. Bei horizontaler Lage floß dem Tier eine seröse Flüssigkeit aus dem Schnabel.

Am nächsten Tage (10. 6.) hockte der Vogel in einer Ecke des Käfigs. Das Krankheitsbild war noch schwerer als am letzten Tage. Die Messung der Morgentemperatur ergab nur noch 39°. Am nächsten Tage wurde der Vogel tot aufgefunden.

Temperaturkurve II: Ganz analoger Weise verhält sich die Temperaturkurve bei Vogel V 11513a. Auch hier bewegt sich die Temperatur in dén ersten Krankheitstagen innerhalb der normalen Grenzen, um am siebenten Tage nach der Infektion kritisch von 42,4° auf 40,3° zu fallen. Auch die Krankheitserscheinungen äußerten sich in der charakteristischen Form.

Vogel V 11513a (inf. am 10. 6. 31)



Diesen für diese Viruskrankheit so charakteristischen Temperaturabfall kurz vor dem Tode finden wir bei einer Reihe von anderen Infektionen, insbesondere bei der in differentialdiagnostischer Hinsicht noch zu besprechenden Hühnerpest, nur wird meistens bei dieser Erkrankung ein vorhergehender Temperaturanstieg beobachtet.

Mortalität

Die Mortalität betrug bei den zahlreichen mit dem Virus intramuskulär geimpften Vögeln 100 Prozent.

Große Aufmerksamkeit schenkte ich bei den erkrankten Tieren dem Blutbild. Das Blut schien mir deshalb von besonderem Interesse zu sein, da Kikuth bei einer Anzahl der erkrankten Tiere eigenartige Gebilde im Blute fand, die wir in unserer gemeinsamen Arbeit ausführlich beschrieben und als X-Gebilde bezeichnet haben, ohne daß wir mit Sicherheit sagen konnten, ob diese Gebilde in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Infektion stehen.

Die Zellelemente des Vogelblutes

Qualitativ unterscheidet sich das Blut der Vögel wesentlich von dem der Säugetiere Die Erythrozyten der Vögel sind im Gegensatz zu denen der Säugetiere kernhaltig. Das trifft natürlich auch bei den von mir untersuchten Kanarienvögeln zu.

Der elliptische Kern der roten Blutkörperchen wird von einem relativ mächtigen Plasma umgeben, das hier und da Polychromasie zeigt, oder bei denen im normal sich färbenden Plasma zuweilen basophile Körnchen nachzuweisen sind. Der Kern ist im gewöhnlichen basophil und zeigt durchgehend ausgesprochene Musterung.
Besondere Beachtung muß man dem sog. „Schatten" der Erythrozyten und anderen morphologischen Elementen des Blutes schenken, die durch mechanische Schädigung entstehen und zu falschen Deutungen Veranlassung geben können. Bei zu dünnen Ausstrichen wird wahrscheinlich durch Druck die Plasmahülle verletzt, sodaß der Kern heraustritt und ein homogenes, sich stets schlechter färbendes Gebilde entsteht. Diese Kunstprodukte findet man häufiger bei zu dünnen und auch am Rande von dickeren Ausstrichen. Sie können insbesondere zu Verwechslungen mit veränderten Leukozyten führen.

Von besonderem Interesse waren für mich, worauf ich später noch zurückkommen werde, die Blutplättchen. Ob die

„Blutplättchen“ der Vögel mit denen der Säugetiere gleichzusetzen sind, konnte bisher nicht entschieden werden. Auch was ihren Bau, ihre Entstehung und Bedeutung anbelangt, so ist z. Zt. bei den verschiedenen Autoren noch keine Einigkeit erzielt. Auf die verschiedenen diesbezüglichen Theorien will ich hier nicht näher eingehen.

Die Blutplättchen sind hämoglobinfrei. Sie ballen sich infolge einer Klebrigkeit außerhalb des Organismus leicht zu Häufchen zusammen. Der Zusammenhang der Plättchen mit der Blutgerinnung und Fibrinbildung ist bekannt.

Bei den Vögeln erscheinen die Blutplättchen im optischen Durchschnitt als mittelstarke Spindeln mit abgestumpften Enden. Sie haben am meisten Ähnlichkeit noch mit den Erythrozyten. Gelegentlich sieht man runde Plättchen, deren Kern kleinen Lymphozyten gleicht und deren Plasma leicht im Ton polychromatophiler Erythrozyten gefärbt ist. Allen Plättchen gemeinsam ist die mittelständige Kernlagerung. Das Plasma färbt sich ein wenig basophil. Durch Musterung des Plasmas wird Vakuolenbildung mitunter vorgetäuscht. Auch die Plättchen des Kanarienvogels verkleben im Ausstrich öfters und neigen zur Agglutination. Das lädierte Plättchen kann nach Verlust der Plasmahülle mitunter mit Farbniederschlägen und Kunstprodukten verwechselt werden.

Das rote und weiße Blutbild zeigte bei den erkrankten Tieren keine wesentlichen Veränderungen. Nur kurz vor dem Tode nimmt, wie wir durch zahlreiche Ausstriche feststellen konnten, die Zahl der jugendlichen polychromatischen Erythrozyten etwas zu.

Der Hämoglobingehalt bleibt während der Infektion auf normaler Höhe zwischen 60 und 70 Prozent (n. Sahli).

Cytologische Befunde

X-Gebilde

Was die von Kikuth gefundenen und von Kikuth und

Gollub beschriebenen X-Gebilde betrifft, so treten diese gewöhnlich ein bis zwei Tage vor dem Tode auf.

Bei einer großen Anzahl von Versuchstieren können sie jedoch nicht nachgewiesen werden.

Kikuth und Gollub haben diese Gebilde folgendermaßen beschrieben:

„Es handelt sich um morphologisch sehr polymorphe unregelmäßige Gebilde, die außerhalb der roten Blutkörperchen liegen. Im nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparat sieht man in den sich grau-blau färbenden Gebilden oft ein bis zwei ungefärbte Vakuolen. Anstelle dieser Vakuolen findet man zuweilen auch eine leuchtendrot gefärbte, chromatinähnliche Masse, die in einzelnen Fällen an den Rand gedrängt sein und oft nur aus kleinen, in Körnchen angeordneten Resten bestehen kann.

Man findet diese Gebilde auch in ungefärbten Präparaten. In Form und Größe entsprechen sie denen in den gefärbten Präparaten. Anstelle der Vakuolen ist eine homogene Masse zu sehen, die sich scharf gegen die gekörnte grauschwärzliche Umgebung abhebt." —

Bei der Frage, was diese Gebilde darstellen, und wie sie entstehen, schlossen wir gleich von Anfang an die Möglichgeit aus, daß es sich um Protozoen handelt, die diese Krankheit verursachen könnten, da diese Gebilde morphologisch zu unregelmäßig und strukturlos waren. Auch im frischen, ungefärbten Präparat waren keine Bewegungen zu beobachten, was die Möglichkeit von Mikroorganismen völlig ausschließt. Weiter wurde in Erwägung gezogen, ob diese Gebilde sich nicht aus degenerierten polychromatischen Erythrozyten entwickeln könnten.

Bei mit Vogelmalaria infizierten und anämischen Vögeln wurden von uns nun trotz vermehrter Polychromasie der Erythrozyten keine ähnlichen Gebilde befunden, so daß diese Theorie abgelehnt werden muß.

Nach Ansicht von Bayon-Cambridge, dem die Präparate zur Verfügung gestellt worden waren, handelt es sich um krankhaft veränderte Blutplättchen. Er hält die X-Gebilde für Reaktionsvakuolen, die sich im Cytoplasma von veränderten Thrombozyten bilden.

Wenn die Annahme von Bayon zutrifft, so kann die Entstehung dieser Gebilde durch den Vorgang einer Karyorhexis erklärt werden, wobei Reste des Kerns mit einem chromatinähnlichen Farbton am Rande der Vakuole zurückbleiben können. Oder aber der Kern fällt ganz heraus und gibt für die Vakuolenbildung Veranlassung.

Für die Entstehung der Gebilde aus den Thrombozyten spricht auch die verlängerte Blutgerinnungszeit, die auf Veranlassung von Bayon geprüft wurde. Während die Blutgerinnungszeit bei gesunden Vögeln zwischen 30 und 50 Sekunden schwankt, im Durchschnitt 43 Sekunden beträgt, ist sie bei den kranken Vögeln wesentlich länger, zwischen 1 bis 3 Minuten, im Durchschnitt 1 Minute 45 Sekunden. Betont muß werden, daß die Verlängerung der Blutgerinnungszeit erst wenige Tage vor dem Tode, zu einer Zeit, wo der Vogel bereits einen kranken Eindruck macht, zu finden ist.

Pathologisch-anatomische und histologische Befunde

Die pathologisch-anatomische Betrachtung der an dem Virus gestorbenen Tiere zeigt eine gleich in die Augen fallende Veränderung der Injektionsstelle an der Brustmuskulatur. Die rosa-rote Muskulatur bekommt 3 bis 4 Tage vor dem Tode einen gelblichen Ton, der im weiteren Verlauf der Erkrankung an Intensität zunimmt und schließlich eine dunkel-gelb-braune Farbe annimmt. Kurz vor dem Tode ist die Muskulatur serös durchtränkt. Die sulziggallertig erweichte Muskulatur wird nekrotisch durchsetzt. — Mikroskopisch finden sich Zeichen einer unspezifischen, zur Nekrose neigenden Entzündung, bei

der sich keine Ursache für eine bakterielle Infektion nachweisen läßt. Oft sind an der Oberfläche der Zellen kleine hyaline Körper vorhanden, während sich in der Subkutis zahlreiche krankhaft veränderte Zellen befinden.

Die anderen Organe zeigen — auch bei Tieren, die unter den schwersten Erscheinungen sterben — nur selten krankhafte Veränderungen. Hin und wieder ist eine vergrößerte Milz vorhanden, doch sind das nur Ausnahmebefunde und evtl. auf eine sekundäre Infektion zurückzuführen.

Am häufigsten erscheint die Lunge im Sinne eines Lungenödems verändert, was allerdings als nicht pathognomonisch anzusehen ist, da bei der Mehrzahl der Tiere die Lunge vollkommen normal aussieht. — In jenen Fällen erscheinen die Lungen etwas voluminöser und von gallertiger Beschaffenheit. Auf Druck, manchmal sogar schon spontan, quillt aus den Bronchien der durchgeschnittenen Organe eine wässrige Flüssigkeit heraus.

Nach meinen Beobachtungen kann das Lungenödem nicht unmittelbare Todesursache sein. Es tritt nur in einigen Fällen auf und kann dann als Zeichen dafür aufgefaßt werden, daß der Tod kurz bevorsteht.

Sehr wahrscheinlich kommt diese Ödembildung im kleinen Kreislauf durch die nachlassende Herzkraft zustande.

Außer dem Lungenödem ist manchmal eine seröse Perikarditis zu finden, die ja, wie beschrieben wurde, bei der Hühnerpest als steter Befund zu verzeichnen ist. Die anderen Organe waren ohne pathologische Befunde, höchstens, daß in seltenen Fällen auf dem Peritoneum und den Pleurablättern kleinere und größere Hämorrhagien zu finden sind. Auch dieses allerdings selten auftretende Symptom ist bei der Geflügelpest beschrieben worden.

Ausstriche aus den verschiedenen Organen wie Lunge, Leber, Nieren, Milz und Rückenmark ergaben keine Be-

sonderheiten, nur das zeitweise, manchmal sogar in sehr großer Zahl, X-Gebilde nachgewiesen werden konnten.

Sektionsprotokolle

Der Übersicht wegen gebe ich einige Sektionsprotokolle zur Ansicht:

V o g e l 10998 b: In der Muskulatur interstitielle Infiltrate aus großen einkernigen Zellen, die teilweise große Vakuolen enthalten. Viele dieser großen Zellen sind verfettet, Muskelfasern z. T. nekrotisch. In der Leber z. T. verfettete Gallengänge.

Lunge: o. B.
Darm: o. B.
Niere: o. B.
Herz: o. B.

V o g e l 1026: Muskulatur: Nekrosen, Ödem und Infiltrationen des Interstitiums. In großen histiozyteren Zellen zahlreiche Vakuolen, Parasiten nicht zu erkennen.

Lunge: pneumonische Infiltrate.
Leber: o. B.
Niere: o. B.
Herz: o. B.

V o g e l 1023: In der Muskulatur zahlreiche große, einkernige Zellen mit zahlreichen Vakuolen im Protoplasma; teilweise sitzen an der Oberfläche der Zellen kleine hyaline Tröpfchen auf. Zahlreiche Muskelfasern nekrotisch. Die die Muskulatur bedeckende Haut zeigt an einigen Stellen Ulcerationen. Zahlreiche verfettete Makrophagen in der Subkutis. In zahlreichen Makrophagen bei Cresyl Vakuolen sichtbar.

In der Lunge nur spärliche lufthaltige Alveolen, in zahlreichen Alveolen Exsudat.

Leber: o. B.

Ätiologie

Bereits nach den Untersuchungen von Kikuth konnte mit Sicherheit eine bakterielle Infektion ausgeschlossen werden und orientierende Filtrationsversuche sprachen für ein filtrierbares Virus.

Im Rahmen vorliegender Arbeit war mir die Aufgabe gestellt, Filtrationsversuche des infektiösen Agens auf

breitester Basis durchzuführen, um den exakten Beweis für die Filtrierbarkeit des Virus zu bringen.

Die Untersuchungen erstreckten sich nicht nur allein auf die Filtrationsversuche, die zugleich die Lokalisation des Virus bestimmen sollten, sondern in diesem Zusammenhange wurden auch die Fragen der Immunität berührt. Außerdem versuchte ich durch Verdünnung des Serums den Titer zu bestimmen, wodurch die Pathogenität greifbare Werte erhält.

Neben diesen Versuchen beschäftigte ich mich noch mit der Frage der Haltbarkeit des Virus und kam da zu unerwarteten und interessanten Ergebnissen. Zuletzt stellte ich noch ergänzende Versuche an, um die Übertragbarkeit des Virus auf andere Tiere näher zu prüfen.

Filtrationsversuche

Für meine Filtrationsversuche benutzte ich Weich- und Hartfilter.

Von den Weichfiltern gebrauchte ich die Seitz-Filter, die aus Asbestfasern bestehen und für einen einmaligen Gebrauch bestimmt sind. Sie werden allgemein für die Trennung des Virus nicht als absolut zuverlässig angesehen, da von einigen Autoren angegeben wird, daß auch kleine Bakterien zuweilen durchgelassen werden. —

Die Hartfilter bestehen aus mineralischen Substanzen. Die zuverlässigsten Filter sind bekanntlich die Berkefeld-Kerzen, die ihrer inneren Struktur nach den zu filtrierenden Flüssigkeiten geringeren Widerstand bieten und infolge ihrer dickeren Schichten die Bakterien besser zurückhalten. Zu den Versuchen benutzte ich die sog. Liliput-Berkefeld-Kerze-N.

Technik der Filtration

Vor jeder Filtration wurden die Filter in einem Autoklaven sterilisiert. Meistens wendete ich die fraktionierte Sterilisation an, auf welche Weise am besten die absolute Keimfreiheit gewährleistet wird.

Die Filter wurden im zusammengesetzten Zustande in Tücher gehüllt in den Autoklaven gebracht. Die Sterilisation dauerte 25 bis 35 Minuten, worauf der Autoklav langsam abgekühlt wurde.

Als Saugkraft benutzte ich die Wasserstrahlpumpe. Zwischen die Saugflasche und die Pumpe wurde noch eine Woulfsche Flasche eingeschaltet, um ein Rückschlagen des Wassers in das Filter zu verhindern. Zur Filtration wurde ein gleichmäßiger negativer Druck von ca. 400 mm Hg angewandt, wobei je ein Tropfen in einer Sekunde angesaugt wurde.

Über die Berkefeld-Kerze wurde noch ein passendes Reagenzglas gestülpt, um den toten Raum unterhalb der Kerze auszuschalten.

Die ersten Kubikzentimeter des Filtrates, das aus klarem Kondenswasser besteht, wurden verworfen.

Zur Dichtigkeitskontrolle des Filters setzte ich nach beendeter resp. während der Filtration dem Filtrans eine Aufschwemmung leicht züchtbarer Bakterien zu; die bebrüteten Kontrollfiltrate blieben bei meinen Versuchen steril, als Zeichen, daß die Filter „bakteriendicht" waren.

Das Filtrans selbst (die Flüssigkeit, die filtriert werden soll), prüfte ich auch auf Keimfreiheit durch Aussaat von Proben auf geeignete Nährböden, bei deren Sterilbleiben die Keimfreiheit bewiesen war.

Filtrationen

Zuerst prüfte ich, um einen Anhalt für die Lokalisation des Virus zu erhalten, sämtliche Organe. Die gewöhnlichen Übertragungsversuche, deren Technik ich schon oben bei der intramuskulären Injektion beschrieb, bewiesen die Virulenz des Blutes.

Filtrationsversuche zerstoßener Organe durch Seitz-Filter

Am 28. 7. 31 wurde Stammvogel 5, der jetzt an seinem 6. Tage nach vollzogener Infektion einen schwerkranken Eindruck machte, dessen Injektionsstellen der Brustmuskulatur gelblich verfärbt und geschwollen war, getötet und sein Blut aus dem Herzen steril entnommen und mit isotonischer Kochsalzlösung versetzt. Es kamen 3 bis 4 Tropfen Blut auf 0,3 ccm isotonischer Kochsalzlösung.

Je 0,3 ccm dieser Flüssigkeit wurden den Vögeln 8 und 9 in die linke Brustmuskulatur eingespritzt. Die Tiere zeigten beide den gleichen Krankheitsverlauf. Vogel 8 erkrankte etwas eher.

Am 4. 8. (also am siebenten Tage nach der Infektion) plusterte er sich auf. Die Injektionsstelle an der Brust war gelblich verfärbt, ödematös und krustig an der Einstichstelle. Das Krankheitsbild wurde schwerer, und am 6. 8. (am neunten Tage nach der Infektion) lag er tot im Käfig. —

Vogel 9 zeigte erst am 8. Tage nach der Infektion die ersten charakteristischen Krankheitserscheinungen. Am 10. Tage machte der Vogel einen sehr schwer kranken Eindruck und wird getötet (s. Protokoll).

Protokolle

Vogel 8 (durch V. 5 infiziert).

28. Juli: 0,3 ccm (Blut + isotonische Kochsalzlösung) inj. in die linke Brustmuskulatur.
3. August: Abwehrbewegungen nicht so stark wie sonst
4. August: Vogel plustert sich auf. Injektionsstelle gelblich verfärbt, ödematös, krustig an der Einstichstelle.
5. August: Vogel macht einen schwerkranken Eindruck.

6. August: Vogel tot.
Totenstarre vorhanden.
Typische Veränderungen an der Brustmuskulatur.
Tier wird 12 Stunden in den Eisschrank gelegt.

Vogel 9 (parallel zu V. 8).

28. Juli: 0,3 ccm (Blut + isotonische Kochsalzlösung) inj. in die linke Brustmuskulatur.
4. August: Tier gesund.
5. August: Vogel kränkelt, Abwehrbewegungen sind schwächer.
6. August: Vogel plustert sich.
Injektionsstelle ist gelblich verfärbt und ödematös
Legt den Kopf nach hinten.
7. August: Die Krankheitserscheinungen treten sehr deutlich hervor. Sträubt sehr sein Gefieder.
Vogel wird getötet.

Am 7. August entnahm ich Vogel 8, der 12 Stunden im Eisschrank lag, die Organe: Herz, Leber, Milz und die stark veränderte Brustmuskulatur mit sterilen Instrumenten, tötete Vogel 9 (s. Protokoll), dessen Organe auch unter denselben Bedingungen entnommen wurden und zerstieß sie alle gemeinsam in einem Mörser unter Benutzung von sterilem Seesand zu einem Brei Der Brei wurde mit 5 ccm steriler Bouillon versetzt und durch ein Liliput-Seitz-Filter geschickt, um von dem Filtrat je 0,5 ccm den Vögeln 10 und 11 in die linke Brustmuskulatur einzuspritzen. Die Filtration der ungewaschenen Organe fand ohne Colikontrolle statt. — Vogel 10 und 11 hatten also je 0,5 ccm Organfiltrat erhalten. —

Um eine sekundäre Infektion auszuschließen, wurden Proben des Filtrates auf 20 prozentigen Blutagar und auf Bouillon geimpft. Beide Nährböden waren nach 48 Stunden steril.

Ebenso verhielt sich die Sterilitätsprobe des Organfiltrans (Flüssigkeit, die noch filtriert werden soll), die ebenfalls auf Blutagar und Bouillon vorgenommen wurde.

Filtrationsversuche von Blut durch Seitz-Filter

Außer dem Organfiltrat pipettierte ich aus dem Herzen der Vögel 8 und 9 das Blut steril ab und versetzte es ebenfalls mit steriler Bouillon.

Den größeren Teil schickte ich unter einem gleichmäßigen Druck von 30 bis 40 mm Hg durch ein Seitz-Filter und spritzte 0,5 ccm des gewonnenen Blutfiltrates den Tieren 12 und 13 in die linke Brustmuskulatur ein. Eine gleichzeitige Sterilitätsprobe des Filtrates (Flüssigkeit die schon filtriert ist), auf 20 prozentigen Blutagar und flüssiger Bouillon fiel negativ aus.

Von dem restlichen nicht filtrierten Teil wurde 0,3 ccm dem Kontrolltier 14 auf die übliche Weise in die linke Brustmuskulatur eingespritzt.

Protokolle

Vogel 10 (Liliput-Seitz-Filter-Organ-Filtrat).

7. August: In die l. Brustmuskulatur wird 0,5 ccm Organfiltrat injeziert: Herz, Leber, Milz, Brustmuskulatur, zusammen und ungewaschen.

11. August: Vogel ist gesund.

12. August: Vogel macht einen kranken Eindruck, Abwehrbewegungen schwächer.

14. August: Vogel plustert sich auf.
Injektionsstelle gelblich, ödematös, krustig.
Vogel stirbt im Laufe des Tages.
Sektion: Injektionsstelle: gelblich verfärbt, ödematös, krustig.
Unterhautbindegewebe: Beim Abheben der Haut zieht sich das Bindegewebe fadenartig, schleimig. Auch die Organe machen einen zerfließlichen Eindruck.
Leber: weich und etwas vergrößert.

Vogel 11 (parallel zu V. 10).

7. August: 0,5 ccm Organfiltrat (Herz, Leber, Milz,

Brustmuskulatur) gemeinsam, ungewaschen.

13. August: Vogel bis jetzt gesund.

14. August: Vogel sitzt unbeweglich auf seiner Stange, macht einen kranken Eindruck, Abwehrbewegungen schwächer.

15. August: Vogel plustert sich stark auf. Injektionsstelle gelblich verfärbt, ödematös.
Vogel sitzt auf dem Boden.

17. August: Vogel liegt tot im Käfig.
Keine Totenstarre vorhanden.
Sektion: Charakteristische Veränderungen an der Brustmuskulatur: gelblich, ödematös, krustig.
Unterhautbindegewebe: schmierig, fadenziehend.
Organe: Leber: vergrößert (?).
Herz: dunkel verfärbt.
Därme: auch dunkel, bläulich gefärbt.

Vogel 12 (Blutfiltrat, Seitz-Filter).

7. August: In die l. Brustmuskulatur werden 0,5 ccm Blutfiltrat injeziert.

13. August: Vogel macht einen gesunden Eindruck,

17. August: Freßlust vorhanden. Injektionsstelle zeigt keine Veränderungen.

20. August: Blutbild immer o. B

24. August: d. s.

26. August: d. s.

12. September: Vogel ist vollkommen munter, unterscheidet sich in seinem Wesen nicht im geringsten von den anderen gesunden Vögeln.

Vogel 13 (Blutfiltrat, parallel zu V. 12).

7. August: In die l. Brustmuskulatur werden 0,5 ccm Blutfiltrat injeziert (Blut + Bouillon).

13. August: Vogel macht einen gesunden Eindruck,

17. August: Freßlust vorhanden. Injektionsstelle o. B

20. August:

24. August: d. s.

26. August:

12. Septembter: Vogel ist vollkommen munter, unterscheidet sich in seinem Wesen nicht von den anderen gesunden Vögeln.

Vögel 14 (Kontrolltier).

7. August: In die l. Brustmuskulatur werden 0,5 ccm des Blut-Bouillon-Filtrans eingespritzt.

12. August: Vogel gesund bis jetzt.

13. August: Vogel krankt. Injektionsstelle etwas gelblich.

14. August: Vogel plustert sich auf. Injektionsstelle gelb, ödematös, krustig.

15. August: Vogel tot. Totenstarre vorhanden.
Sektion: Nur die Brustmuskulatur zeigt die charakteristischen Erscheinungen. Alle anderen Organe: o. B.

Wie aus den Protokollen ersichtlich ist, ging die Infektion bei den mit dem Organfiltrat geimpften Vögeln an. Sie starben am siebenten resp. am neunten Tage, während die mit dem Blutfiltrat geimpften Vögel völlig gesund blieben und während der zweimonatlichen Beobachtungszeit nicht die geringsten Krankheitserscheinungen zeigten. Bei dem Kontrolltier 14 zeigten sich schon nach sechs Tagen die ersten Krankheitserscheinungen. Am achten Tage nach der Infektion lag das Tier mit den charakteristischen Veränderungen der Brustmuskulatur tot im Käfig. — Sein Blut wurde zur Fortführung des Stammes mit Erfolg verwendet.

Bei dieser Anordnung der Versuche mußte man eigentlich zu dem Schlusse kommen, daß das Virus wohl im Blut lokalisiert ist, wie die ganz einfachen Uebertragungsversuche zeigten, sich aber mit besonderer Vorliebe an die Organe hält. — Ein weiterer Filtrationsversuch, der ungefähr ein halbes Jahr später angesetzt wurde, in dem ebenfalls Organbrei durch ein Liliput-Seitz-Filter geschickt wurde, fiel auch positiv aus.

Protokoll

Vogel 90, der auf übliche Weise intramuskulär infiziert war, wird an seinem achten Krankheitstage, an dem er einen schwerkranken Eindruck macht, getötet und die Organe: Herz, Leber, Milz und Brustmuskulatur

steril herausgenommen, mit sterilem Seesand in Mörsern verrieben und mit steriler Bouillon versetzt, um durch ein Liliput-Seitz-Filter filtriert zu werden.

Eine gleichzeitig angestellte Colikontrolle, die auf Blutagar, Endonährböden und Traubenzuckenbouillon von dem Filtrat ausgeführt wird, fällt negativ aus. Das Filter war also bakteriendicht

0,3 ccm des Organfiltrates wird Vogel 91 am 27. 2. 32 eingeimpft.

3. März: Vogel plustert sich, die Injektionsstelle ist gelb und ödematös.

4. März: Vogel liegt tot im Käfig.
Sektion außer der veränderten Brustmuskulatur o. B.

Dieser Versuch würde also den oben angegebenen Schluß noch bekräftigen.

Filtration von Blut durch Seitz-Filter

Um trotzdem die Ergebnisse der **Blutfiltrationen** mit dem **Seitz-Filter** noch näher zu prüfen, setzte ich am 3. 10. neue Versuche an, nur daß ich hier das Blut nicht mit Bouillon versetzte, sondern in einem Mengenverhältnis von 1 : 100 mit Aqua redest. ster. verdünnte.

Das Blut entnahm ich dem Stammvogel 45 an seinem neunten Krankheitstage, an dem er sich schon sehr aufplusterte und die charakteristischen Krankheitserscheinungen zeigte, aus der Flügelvene und verdünnte es im oben angegebenen Mengenverhältnis.

Das Blut wurde durch ein vorbereitetes Liliput-Seitz-Filter unter einem gleichmäßigen Druck von 30 bis 40 mm Hg angesaugt. Das Filtrat, von dem ich zugleich Sterilitätsproben auf 20prozentigem Blutagar und flüssiger Bouillon ansetzte, die alle negativ ausfielen, war eine klare Flüssigkeit.

Von diesem Blutfiltrat wurde den Vögeln 49 und 50 je 0,5 ccm und Vogel 51 1,0 ccm in die linke Brustmuskulatur eingespritzt.

Die Vögel erholten sich ausnahmslos von dem Injektionsshock und zeigten während einer zweimonatlichen Beobachtungszeit, wie aus den Protokollen ersichtlich ist, keinerlei Krankheitserscheinungen. Auch hier war also die Infektion nicht angegangen.

Protokolle

Vogel 49 (Blutfiltrat, Seitz-Filter).

3. Oktober: Infiziert mit 0,5 ccm Filtrat.
10. Oktober: Vogel gesund.
14. Oktober: Brustmuskulatur: o. B.
20. Oktober:
3. Dezember: Vogel zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Vogel 50 (Blutfiltrat, Seitz-Filter).

3. Oktober: Infiziert mit 0,5 ccm Filtrat.
10. Oktober: Vogel gesund.
14. Oktober: Brustmuskulatur: o. B.
20. Oktober:
3. Dezember: Vogel zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Vogel 51 (Blutfiltrat, Seitz-Filter).

3. Oktober: Infiziert mit 1,0 ccm Filtrat.
5. Oktober: An der Brustmuskulatur ein kleines Hämatom; sonst Vogel munter.
10. Oktober: Vogel gesund.
14. Oktober: Brustmuskulatur: o. B.
20. Oktober:
2. Dezember: Vogel zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Diese negativen Ergebnisse schienen die oben angeführte Vermutung zu bestätigen. Soweit das keine Zufallsergebnisse waren, mußte sich das Virus mit besonderer Vorliebe an die Organe lokalisiert halten.

Bei dieser Gelegenheit prüfte ich, ob evtl. eine Immunität eingetreten ist und reinfizierte Vogel 49, 50 und 51 am 5. 12. 31, also nach zwei Monaten mit der üblichen Blut-aqua redest. ster.-verdünnung 1 : 100 (kein Filtrat).

Protokolle

Vogel 49 (Reinfiziert mit Blut-aqua redest. ster. 1 : 100).

5. Dezember: Injektion: 0,3 ccm.
11. Dezember: Vogel plustert sich. Brustmuskulatur gelb und ödematös.
12. Dezember: Vogel tot. Totenstarre noch vorhanden. Brustmuskulatur typisch verändert, sonst Sektion: o. B.

Vogel 50 (Reinfiziert mit Blut-aqua-redest. ster. 1 : 100).

5. Dezember: Injektion: 0,3 ccm.
11. Dezember: Vogel krankt, Brustmuskulatur leicht gelb.
12. Dezember: Vogel plustert sich, schnappt nach Luft.
14. Dezember: Vogel tot.
Sektion: Charakteristisch veränderte Brustmuskulatur. Sonst o. B.

Vogel 51 (Reinfiziert mit Blut-aqua redest. ster. 1 : 100).

5. Dezember: Injektion: 0,3 ccm.
11. Dezember: Brustmuskulatur leicht gelb.
12. Dezember: Vogel plustert sich, schnappt nach Luft Tot.

Eine Immunität war also wie aus den Protokollen ersichtlich ist, nicht eingetreten.

Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse

Nach diesen Filtrationsversuchen mußte man annehmen, daß sich das Virus besonders an die Organe hält, daß diese eine besonders günstige Lokalisationsstelle darstellen müssen.

Um zu prüfen, welches Organ mit am stärksten davon betroffen sein könnte, filtrierte ich sie **einzeln.**

Filtrationen der einzelnen Organe durch Seitz-Filter

Die Organe Herz, Leber und die charakteristisch veränderte Brustmuskulatur werden für diese Versuche dem Vogel 17, der an seinem siebenten Krankheitstage (24. 8.) die charakteristischen Krankheitserscheinungen zeigt und getötet wird, steril entnommen und **einzeln** in Reibeschalen mit sterilem Seesand verrieben. Die Organe werden mit steriler Bouillon versetzt und je durch ein Liliput-Seitz-Filter filtriert. Von jedem Filtrat werden je 0,5 ccm den einzelnen Versuchstieren eingeimpft.

Vogel 20 und 21 bekamen am 25. 8. 0,5 ccm des Herzfiltrates injeziert. Während Vogel 20 gleich nach der Injektion starb (an der Injektionsstelle zeigte sich ein großes Hämatom), erholte sich Vogel 21 innerhalb einer halben Stunde von dem Injektionsshock. Nach 5 Tagen entwickelte sich am Abdomen eine harte Geschwulst, die, wie es sich später herausstellte, mit unserer Krankheit nichts zu tun hatte (s. Protokoll). Es handelte sich wahrscheinlich um eine Sekundärinfektion. Der Vogel selbst blieb gesund. Die Geschwulst, die keinerlei Aehnlichkeit hatte mit der bei unserer Krankheit beobachteten, verschwand nach vierzehn Tagen.

Protokolle

Vogel 21 (Herzfiltrat).

25. August: 0,5 ccm des Herzfiltrates werden injeziert.
26. August: Vogel zeigt ein krankes Aussehen. Besonders fällt auf, daß das Abdomen geschwollen ist.
27. August: d. s. wie am 26. August.
28. August: Vogel, der bisher ziemlich still auf seiner Stange saß, macht heute einen beweglicheren Eindruck; trotzdem ist das Abdomen stark geschwol-

len und zeigt an der Oberfläche der Geschwulst eine krustige Beschaffenheit.

31. August: Vogel ist munter, nur ist das Abdomen noch stärker angeschwollen. Die Geschwulst ist krustig und hart.
1. September: Vogel macht sonst einen gesunden
6. September: Eindruck, Freßlust vorhanden. Der
6. September: Tumor ist bis zu Haselnußgröße an-
6. September: geschwollen.
7. September: Die harte Geschwulst ist aufgebrochen. Es zeigt sich eine Höhle mit krustig harter Wandung. Vogel sonst munter.
11. September: Der Vogel ist vollkommen munter. Die Brustmuskulatur ist gesund gerötet und zeigt keinerlei Veränderungen. Der aufgebrochene Tumor am Abdomen sezerniert etwas rötlich-gelbe Flüssigkeit, die sehr wahrscheinlich dann im trockenen Zustande die krustige Beschaffenheit der Wandung der Höhle ausmacht.
20. September: Vogel gesund und munter. Die Wundhöhle hat sich geschlossen.

Den Infektionsversuch mit dem Herzfiltrat muß man also negativ bezeichnen.

Ebenso wurde Vogel 22 und 23 am 25. 8. mit dem Leber-Seitz-Filter-Filtrat geimpft. Auch sie blieben gesund und zeigten keinerlei Krankheitserscheinungen.

Protokolle

Vogel 22 (Leberfiltrat).

25. August: Die Leber von V. 17 wird zerstoßen, mit steriler Bouillon durch ein Seitz-Filter filtriert und 0,5 ccm des Filtrates Vogel 22 in die linke Brustmuskulatur eingespritzt.
29. August: Vogel gesund. Brustmuskulatur nicht verändert.
7. September: Vogel gesund.
12. September: Vogel gesund. Brustmuskulatur zeigt keinerlei Veränderungen.
Ganz analog verlief der Versuch mit Vogel 23.

Der Versuch mit dem **Leberfiltrat** ist also auch **negativ** ausgefallen.

Vogel 24 und 25 werden ebenfalls am 25. August infiziert. Die dem Vogel 17 steril entnommene Brustmuskulatur wird zerstoßen, mit steriler Bouillon durch ein kleines Seitz-Filter filtriert und 0,5 ccm des Filtrates den Vögeln in die linke Brustmuskulatur eingespritzt.

Protokolle

Vogel 24 (Brustmuskelfiltrat).

25. August: Injektion von 0,5 ccm.
29. August: Vogel bleibt gesund, Brustmuskulatur nicht verändert.
7. September: Vogel ist gesund.
12. September: Vogel ist gesund. Brustmuskulatur nicht verändert

Vogel 25: ganz analog wie Vogel 24.

Also auch die Versuche mit dem **Brustmuskelfiltrat** fielen **negativ** aus.

Meine erste Annahme, daß sich das Virus an irgendein Organ besonders lagere, daß man es durch die Filtrationsversuche näher bestimmen könne, hat sich also nicht bestätigt.

Sämtliche **Blutfiltrationen** durch **Seitz-Filter** fielen **negativ** aus, sämtliche **Organfiltrationen,** bei denen **alle** Organe **gemeinsam** filtriert wurden, fielen **positiv** aus, während wieder die zuletzt geschilderten Versuche, bei denen die **einzelnen** Organe filtriert wurden, **negativ** ausfielen.

Daß das Virus filtrierbar ist, wurde durch die gemeinsamen Organfiltrationen bewiesen. Scheinbar ist das Seitz-Filter in seiner inneren Struktur für Blut- und Serumfiltrationen nicht geeignet, während vielleicht die Organfiltrationen eine dem Virus günstige Form bieten, das Filter zu passieren.

Die widersprechenden und nicht eindeutigen Ergebnisse mit den Seitz-Filtern machten weitere Filtrationsversuche notwendig, die ich jetzt mit **Berkefeld-Kerzen** anstellte. Da durch die gewöhnliche intramuskuläre Uebertragung die Virulenz des Blutes erwiesen war, stellte ich erst **Blutfiltrate** durch **Berkefeld-Kerzen** für weitere Versuche her.

Blutfiltrationen mit Berkefeld-Kerzen

Vogel 31, der an seinem fünften Krankheitstage, am 23. 9. 31, die charakteristischen Krankheitserscheinungen zeigte, dessen Brustmuskulatur gelb, ödematös und nekrotisch war, der bewegungslos und aufgeplustert auf der Stange saß, wurde getötet und das Blut steril aus dem Herzen abpipettiert.

Dann wurden 0,1 ccm in 10,0 ccm aqua redest. ster. aufgeschwemmt.

Die Filtration dieser Aufschwemmung fand durch eine Berkefeld-Kerze N statt. Sie dauerte unter einem mittleren Druck von 50 bis 60 mm Hg ungefähr 2 Minuten.
Die ersten Kubikzentimeter, die aus dem noch in der Kerze befindlichen Kondenswasser bestanden, waren wasserhell und klar und wurden verworfen.

Während das in dem Filtrierapparat eingeschüttete Filtrans trübe und undurchsichtig war, hatte das angesaugte Filtrat rötliche Farbe und war vollkommen klar.
Eine rechtzeitig gemachte Colikontrolle des Filters auf seine Dichtigkeit fiel auf Blutagar, Endoplatte, und Traubenzuckerbouillon negativ aus.

Auch Beimpfungen mit dem Filtrans auf Blutagar und anderen flüssigen Nährböden fielen negativ aus.

Dem Vogel 35 wurden 0,5 ccm des Blutfiltrates in die linke Brustmuskulatur eingeimpft. Vom 23. 9. bis zum 3. 10. war er gesund. Am 4. 10. macht er einen kranken

Eindruck, sitzt auf dem Boden des Käfigs. Die Brustmuskulatur ist stark gelb gefärbt und ödematös. Am 5. 11. stirbt der Vogel. Die Sektion zeigte außer der charakteristisch veränderten Brustmuskulatur keine Besonderheiten. — Die ersten Krankheitserscheinungen traten am 10. Tage nach der Infektion auf. Der Tod erfolgte am 12. Tage nach der Infektion.

Protokolle

Vogel 35.

23. September: Mit 0,5 ccm Blutfiltrat (Berkefeld-Kerze) in die linke Brustmuskulatur geimpft.
2. Oktober: Bis jetzt ist Vogel munter, Brustmuskulatur o. B.
3. Oktober: Vogel munter, Brustmuskulatur leicht gelb und ödematös.
5. Oktober: Vogel sitzt krank im Käfig, keine Abwehrbewegungen. Brustmuskulatur stark gelb und ödematös, nicht krustig. Vogel stirbt im Laufe des Nachmittags.
Sektion: Brustmuskulatur gelb, ödematös
Leber: dunkelrot.
Herz: kontrahiert.
Milz: o. B.

Bei Vogel 36 verlief die Krankheit ähnlich. Er wurde ebenfalls mit 0,5 ccm des Blutfiltrates geimpft. Die ersten Krankheitserscheinungen traten am dreizehnten Tage nach der Infektion auf, am fünfzehnten Tage starb der Vogel mit den charakteristischen Erscheinungen.

Protokolle

Vogel 36.

23. September: 0,5 ccm des Blutfiltrates in die linke Brustmuskulatur injeziert. Vogel verträgt die Injektion gut.
26. September: Vogel munter. In der Brustmuskulatur zeigt sich eine grünlich verfärbte Stelle.

28. September: Vogel macht einen gesunden Eindruck. Statt der grünlichen Stelle an der Brustmuskulatur findet sich ein leicht gelblich verfärbter Fleck.

30. September: Vogel mobil, Brustmuskulatur sieht gesund gerötet aus. Die gelbliche Stelle ist verschwunden.

3. Oktober: Vogel munter. Brustmuskulatur o. B.

5. Oktober: Vogel leicht krank. Brustmuskulatur gelb und krustig.

6. Oktober: Vogel plustert sich auf. Brustmuskulatur stark gelb und ödematös.

7. Oktober: Vogel sitzt stark aufgeplustert auf dem Boden des Käfigs, schnappt öfters nach Luft. Kopf nach links hinten eingezogen und unter den Flügel gesteckt. Keine Abwehrbewegungen. Brustmuskulatur stark ödematös, krustig, gelb. — Vogel bleibt auf dem Rücken liegen, macht einen sehr kranken Eindruck. Stirbt im Laufe des Tages.

Sektion: Brustmuskulatur charakteristisch verändert. Alle anderen Organe o. B.

Weitere Filtrationsversuche mit Berkefeld-Kerzen an den Kanarienvögeln 68 und 69 brachten ebenfalls einwandfreie positive Ergebnisse. In diesen Fällen stand das Blut, das von Vogel 57 stammt, über 48 Stunden in einem geschlossenen sterilen „Kartoffelschälchen" im Eisschrank aufbewahrt. Trotzdem büßte das Virus nichts an Kraft ein.

Protokolle

Die Verdünnung des Blutes von Vogel 57 mit aqua redest. ster. (1 : 100) stand vom 17. Oktober mittags bis zum 19. Oktober 10 Uhr morgens in einem sterilen Kartoffelschälchen im Eisschrank.

Zur Filtration wurden 8 ccm verwendet. Unter einem gleichmäßigen Druck von 40 cm Hg wurde die Filtration durchgeführt, die 2 Minuten dauerte. In einem gleich-

mäßigen Abstande von 1 Sekunde wurden die einzelnen Tropfen des Filtrates angesaugt.

Die ersten 4 ccm waren wasserklar und wurden verworfen. Die weiteren 4 ccm waren leicht gelb und klar und wurden zur Injektion benutzt.

Zur Dichtigkeitskontrolle wurde dann noch die Kerze mit 10,0 ccm einer Staphylokokkenbouillon beschickt. Die ersten Kubikzentimeter waren dunkelrot. Die Farbe deutete auf das in die Kerzen ausgeschwemmte Hämoglobin des ersten Filtrans hin.

Das zweite Filtrat (aus der Staphylokokkenbouillon) wurde auf Blutagar und Gelatine geimpft, die nach 48 Stunden noch steril waren.

Protokolle

Vogel 68.

19. Oktober: Geimpft mit 0,5 ccm des Filtrates.
26. Oktober: Vogel munter, Brustmuskulatur leicht gelb und ödematös.
29. Oktober: Vogel plustert sich auf. Brustmuskulatur gelb und ödematös. V. liegt am Nachmittag tot auf dem Boden des Käfigs.
Sektion: außer der Brustmuskulatur: o. B.

Vogel 68, am 19. 10. infiziert, zeigte also am achten Tage die ersten Krankheitserscheinungen und starb am zehnten Tage nach der Infektion.

Protokolle

Vogel 69.

19. Oktober: Geimpft mit 0,5 ccm des Filtrates.
27. Oktober: Vogel bisher gesund.
29. Oktober: Vogel plustert sich etwas auf, Brustmuskulatur gelb und ödematös.
30. Oktober: Vogel plustert sich stark auf. Brustmuskulatur krustig.
31. Oktober: Vogel tot.
Sektion: außer der Brustmuskulatur: o. B.

Vogel 69, auch am 19. 10. infiziert, zeigte die ersten Krankheitserscheinungen am 10. Tage und starb am 12. Tage nach der Infektion. Die Sektion ergab außer den charakteristischen Veränderungen an der Brustmuskulatur in beiden Fällen keine Besonderheiten.

Der Tod erfolgte in **fast doppelter** Zeit als bei den sonst mit unverdünnten und nicht filtrierten Vira geimpften Vögeln.

Unter fast den gleichen Bedingungen wie die eben geschilderten Filtrationsversuche erfolgten zwei weitere Versuche an den Vögeln 72 und 73. Das Blut stammte von Vogel 69, das auch, hier allerdings in einer Verdünnung von 1 : 10 für 24 Stunden im Eisschrank stand und in einer Verdünnung von 1 : 100 durch Berkefeld-Kerzen filtriert wurde.

Die Filtration erfolgte unter einem negativen Druck von 30 mm Hg. Zuerst wurde, wie schon geschildert, eine wasserklare Flüssigkeit angesaugt, darauf folgte eine rötlich opaleszente Flüssigkeit, die zur Weiterverimpfung angewendet wurde.

Eine Filtration einer Staphylokokkenbouillon ergab wie oben genügende Dichtigkeit der Kerzen.

Protokoll

Vogel 72.

29. Oktober: 0,5 ccm des Filtrates zur Injektion.
6. November: Vogel ist apathisch, plustert sich etwas. Brustmuskulatur stark gelb und ödematös.
9. November: Vogel tot.

Vogel 73.

29. Oktober: 0,5 ccm des Filtrates zur Injektion.
6. November: Vogel plustert sich, ist sehr apathisch. Brustmuskulatur stark gelb und ödematös.
9. November: Vogel liegt tot im Käfig.

Die Krankheit verlief in charakteristischer Weise. Beide Vögel starben 11 Tage nach der Infektion. Die Sektion

ergab wieder außer der veränderten Brustmuskulatur keine weiteren Besonderheiten.

Die Versuche an den Vögeln 35, 36, 68, 69, 72 und 73 ergaben einwandsfrei den Beweis für die Filtrierbarkeit des Virus und seine Lokalisation im Blut. Der Tod trat bei den Filtrationen ungefähr 4 bis 7 Tage später ein als bei Impfung mit unverdünntem und nicht filtriertem Blut.

Pathogenität

Wie Kikuth und Gollub bereits schon mitteilten, erwies sich das Virus als außergewöhnlich infektiös. Diese Beobachtungen beruhen auf den teils von mir durchgeführten Versuchen.

In erster Linie kam es mir darauf an, festzustellen, mit welchen Verdünnungen noch eine Uebertragung der Krankheit möglich sei.

Bei der Herstellung der Verdünnungen vermied ich den sog. **Pipettenfehler,** auf den Doerr s. Zt. aufmerksam machte, indem ich dauernden Pipettenwechsel vornahm. Die Notwendigkeit ergibt sich aus seiner hier angeführten Betrachtung: „Für die Herstellung jeder einzelnen Verdünnung ist eine neue Pipette zu benützen. Verwendet man, wie das sonst immer geschah und leider auch noch geschieht, zur Herstellung sämtlicher Verdünnungen einer Auswertungsreihe eine einzige Pipette, so erhält man ganz unregelmäßige Resultate und die eben noch wirksame Infektionsdosis kann einen so niedrigen Wert annehmen, daß das Ergebnis schon an sich als falsch bezeichnet werden muß. Die Ursache liegt einfach darin, daß die Pipette nie absolut vollständig entleert werden kann; an der einen Pipettenwand bleiben stets mehr oder minder große Quanten der aufgenommenen Flüssigkeit bezw. der in derselben suspendierten Partikel haften und werden, falls die gleiche Pipette wieder benutzt wird,

in irgendeine der folgenden Verdünnungen ausgeschwemmt."

Unter diesem Gesichtspunkt stellte ich meine Verdünnungen her.

Zehntausendfache Verdünnung

Technik: Von Vogel 31, der am fünften Tage nach der Infektion, am 23. 9. 31, die charakteristischen Krankheitserscheinungen zeigte, wurde steril 0,1 ccm Blut aus dem Herzen abpipettiert und mit 10,0 ccm aqua redest. ster. verdünnt. Unter Pipettenwechsel wurde die Flüssigkeit weiter auf eine 10 000 fache Verdünnung und dann noch gesondert auf eine 1 000 000 fache Verdünnung gebracht. Erstere (10 000 fache) Verdünnung wurde den Vögeln 40 und 41 in der üblichen Weise in die linke Brustmuskulatur eingespritzt

Protokoll

Vogel 40.

23. September: Injektion von 0,3 ccm einer 10 000 fachen Verdünnung, die vertragen wird.
30. September: Vogel munter, Brustmuskulatur zeigt gelbliche Infiltrationen und ist ödematös.
2. Oktober: Vogel plustert sich und ist apathisch. Brustmuskulatur ist gelb und ödematös.
Vogel stirbt am selben Tage.
Sektion: Brustmuskulatur typisch verändert, sonst o. B.

Die ersten Krankheitserscheinungen zeigten sich am siebenten Tage nach der Infektion, Vogel stirbt am neunten Tage.

Protokoll

Vogel 41.

23. September: Injektion von 0,3 ccm einer 10 000 fachen Verdünnung.
30. September: Vogel munter. Brustmuskulatur gelb und ödematös.

1. Oktober: Vogel sitzt apathisch in der Ecke. Abwehrbewegungen schwach. Brustmuskulatur gelb und ödematös.
2. Oktober: Vogel liegt tot im Käfig.
Sektion: Außer der Brustmuskulatur, die sehr gelb und ödematös ist: o. B.

Am neunten Tage zeigt der Vogel ausgesprochene Krankheitserscheinungen und stirbt am zehnten Tage. Das Sektionsbild ist immer das gleiche.

Einen weiteren Infektionsversuch mit einer Verdünnung 1 : 10 000 stellt der Versuch an Vogel 78 dar.

Vogel 78. — Von Vogel 64, der am neunten Krankheitstage schwere Erscheinungen zeigte, und getötet wurde, pipettierte ich 0,1 ccm Blut aus dem Herzen, verdünnte es mit aqua redest.ster. auf 1 : 10 und ließ es 24 Stunden im Eisschrank stehen. Am 29. 9. wurde Vogel 78 mit 0,5 ccm einer weiteren Verdünnung (1 : 10 000), die unter stetem Pipettenwechsel vorgenommen wurde, geimpft.

Protokoll

Vogel 78.

29. Oktober: Injektion von 0,5 ccm einer 10 000 fachen Verdünnung.
3. November: Vogel munter, leichte Gelbfärbung der Brustmuskulatur und Oedem.
8. November: Vogel plustert sich. Brustmuskulatur ist nicht mehr so gelb.
9. November: Vogel tot.
Sektion: typisch.

Der Vogel starb am elften Tage nach der Infektion. Hier war auffällig, daß das gelbliche Oedem an der Brustmuskulatur am Tage vor dem Tode etwas zurückging.

Einmillionfache Verdünnung

Wie schon oben erwähnt, brachte ich das Blut von Vogel 31, dessen Virulenz durch die Versuche an den Vögeln 40 und 41 erwiesen war, bis auf eine einmillionfache Ver-

dünnung, wobei ich auf steten Pipettenwechsel achtete. 0,3 ccm dieser Verdünnung impfte ich zwei Vögeln 42 und 43 ebenfalls am 23. 9. in der üblichen Weise in die linke Brustmuskulatur.

Protokoll

Vogel 42.

23. Oktober: 0,3 ccm einer 1 000 000 fachen Verdünnung werden injeziert.
30. Oktober: Vogel munter, Brustmuskulatur leicht gelb und ödematös.
3. November: Vogel munter, Brustmuskulatur mehr gelb und ödematös. Schnappt hin und wieder nach Luft, ist sonst aber sehr mobil.
5. November: Vogel plustert sich auf, schnappt nach Luft. Brustmuskulatur gelb und ödematös. Stirbt um 16 Uhr.
Sektion: typisch.

Der Tod bei Vogel 42 erfolgte 14 Tage nach der Infektion mit den charakteristischen Erscheinungen. Der Verlauf der Krankheit war regelrecht.

Protokoll

Vogel 43.

23. Oktober: Injektion von 0,3 ccm einer 1 000 000-fachen Verdünnung, die gut vertragen wird.
30. Oktober: Vogel munter, Brustmuskulatur leicht gelb.
2. November: Vogel mobil. Brustmuskulatur gelb und ödematös.
5. November: Vogel plustert sich auf. Brustmuskulatur gelb und ödematös.
Blutbild, das übrigens täglich gemacht wurde, zeigt hier viele jugendliche, polychromatische Erythrozyten und die X-Körperchen.
6. November: Vogel tot. Brustmuskulatur gelb, krustig, ödematös.
Sektion: Leber zeigt kleine gelbliche Flecken, sonst, außer der Brustmuskulatur, o. B.

Vogel 43 starb 15 Tage nach der Infektion mit den bekannten Erscheinungen.

Einen dritten Versuch mit derselben Verdünnung machte ich noch bei Vogel 79, bei dem aber die Infektion nicht anging. Das Blut stammte von Vogel 64, das schon zu zwei weniger starken Verdünnungsversuchen (1 : 100 und 1 : 10 000) mit Erfolg benutzt wurde.

Trotzdem gelang die Infektion bei Vogel 79, der am 29. 10. mit einer 1 000 000 fachen Verdünnung geimpft wurde, nicht. Er blieb gesund.

Protokoll

Vogel 79.

29. Oktober: Injektion von 0.3 ccm einer 1 000 000-fachen Verdünnung.
19. November: Vogel, der bis heute beobachtet wurde, zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Um auch in diesem Falle eine Immunität auszuschließen, die allerdings bei meinen zahlreichen Untersuchungen niemals beobachtet wurde, reinfizierte ich diesen Vogel am 5. 12., also gut nach einem Monat, mit infektiösem Material. Das Tier erhielt eine Injektion von 0,3 ccm einer Verdünnung von Blut und aqua redest.ster. 1 : 100.

Protokoll

Vogel 79.

5. Dezember: Injektion mit 0,3 ccm Blut-aqua-redst. ster.-Verdünnung 1 : 100.
11. Dezember: Brustmuskulatur gelb und ödematös.
12. Dezember: Vogel schnappt nach Luft.
14. Dezember: Vogel tot.
Sektion: typisch.

Das reinfizierte Tier starb zehn Tage nach der Infektion mit den charakteristischen Erscheinungen an der Brustmuskulatur. Hätte Immunität bestanden, dann hätte die Infektion nicht angehen dürfen.

In dem zuletzt angeführten Falle liegt vielleicht eine

sog. „Leerimpfung“ vor. Nach den letzten Erwägungen glaubt man, daß die Substrate, die filtrierbare Vira enthalten, wie bei uns die hergestellten Verdünnungen, Suspensionen corpusculärer Partikel, der „Viruselemente“ (Doerr) sind. Wenn man nun diese Viruselemente für Mikrobenzellen oder auch nur für unteilbare „Ganzheiten“ ansieht, so steigt mit zunehmender Verdünnung die Möglichkeit, daß in der zur Verimpfung bestimmten Dosis überhaupt keine Viruselemente vorhanden sind, daß dann eine sog. Leerimpfung eintritt.

Einen Beweis für die corpusculäre Eigenschaft der einzelnen Virusteilchen gerade bei der von uns beschriebenen Krankheit erbrachten inzwischen H. Bechhold und M. Schlesinger aus dem Institut für Colloidforschung (Frankfurt a. Main). Ihnen gelang es u. a. durch die Zentrifugiermethode die Teilchengröße des Erregers der Krankheit mit 120 mu zu ermitteln. Nach den weiteren Ergebnissen haben die sedimentierten Virusteilchen gleiche Größe untereinander, was nach früheren Arbeiten den Schluß erlaubt, daß die Virusteilchen in frei suspendiertem Zustande (nicht an irgend welche Träger gebunden) vorliegen und als geformte Gebilde zu betrachten sind.

Aehnliche Resultate fanden Bechhold und Schlesinger auch schon bei anderen filtrierbaren Vira.
Um eine Vergleichsmöglichkeit der Größenverhältnisse der Teilchengröße des von uns beschriebenen Erregers zu geben, bringe ich von verschiedenen Vira die von Bechhold und Schlesinger berechneten Werte:

„Pockenvaccine	200 mu
Herpes	200 mu
Kikuth-Gollubsches Virus	120 mu
Hühnerpest	110 mu
ein Coli-Bakteriophage	90 mu“.

Versuche mit einer zehnmillionenfachen Verdünnung

Bei einem nächsten Versuch stieg ich mit der Verdünnung auf ein 10 000 000 faches.

Das Blut stammte ebenfalls von Vogel 64, demselben Spender wie bei den letzten Versuchen, die die Virulenz des Blutes bewiesen.

Protokoll

Vogel 80.

29. Oktober: Injektion von 0,5 ccm einer Blut-aqua-redest. ster.-Verdünnung 1 : 10 000 000.
19. November: Vogel zeigte bis heute keinerlei Krankheitserscheinungen.

Das Tier blieb gesund. Auch hier prüfte ich den Vogel auf Immunität.

Protokoll

Vogel 80.

5. Dezember: Injektion von 0,3 ccm einer Blut-aqua-redest. ster.-Verdünnung 1 : 100.
11. Dezember: Vogel mobil. Brustmuskulatur leicht gelb und ödematös.
13. Dezember: Vogel plustert sich auf. Brustmuskulatur gelb und ödematös.
14. Dezember: Vogel tot.
Sektion: typisch.

Zusammenfassung

Aus diesen Verdünnungsversuchen ist ersichtlich, daß das Virus selbst noch bei der außerordentlich starken Verdünnung von 1 : 1 000 000 wirksam ist, während die Verdünnungen von 1 : 10 000 000 keine Infektionsfähigkeit hatten.

Verdünnungsversuche mit Filtraten

Aehnliche Verdünnungsversuche stellte ich auch mit den filtrierten Flüssigkeiten an. Zu den Versuchen benutzte ich die Berkefeld-Kerzen.

Das Blut stammte von Vogel 58. Die Virulenz des Materials erwies sich schon bei den Versuchen an den Vögeln 68 und 69. Das Blut wurde mit aqua redest. ster. auf 1 : 100 verdünnt und durch vorbereitete Berkefeld-Kerzen filtriert. Dieses Filtrat brachte ich weiter mit aqua redest. ster. auf eine Verdünnung von 1 : 10 000.

0,5 ccm dieser Flüssigkeit spritzte ich den Vögeln 66 und 67 in der üblichen Weise ein.

Die Tiere blieben gesund.

Um auch hier die Immunität auszuschließen, reinfizierte ich sie mit einer Injektion einer Blut-aqua-redest.ster.-verdünnung im Verhältnis 1 : 100. Sie starben am siebenten resp. neunten Tage nach der Infektion.

Auch die weiteren Verdünnungsversuche mit Filtraten bei den Vögeln 74, 75 und 77 fielen negativ aus.

Das in einer Verdünnung 1 : 100 durch eine Berkefeld-Kerze N unter Dichtigkeitskontrollen gewonnene Filtrate wurde unter stetem Pipettenwechsel auf eine Verdünnung von 1 : 10 000 und 1 : 1 000 000 gebracht und den Vögeln 74, 75 (10 000 fache Verdünnung) und 76, 77 (1 000 000 fache Verdünnung) je 0,5 ccm in üblicher Weise injeziert. Während das Filtrans, das zur Kontrolle in seiner ursprünglichen Verdünnung (1 : 100) den Vögeln 72 und 73 eingespritzt wurde, sich als wirksam erwies — beide Vögel starben am elften Tage — ging die Infektion bei keinem der mit dem verdünnten Filtrate infizierten Vögeln an.

Auch hier machte ich eine Kontrolle auf Immunität. Sämtliche mit je 0,5 ccm Blut-aqua-redest.ster.-ver-

dünnung 1 : 100 am 5. 12. nachinfizierten Vögeln (74—77) starben am siebenten resp. neunten Tage.

Zusammenfassung

Sämtliche Filtrate in einer stärkeren Verdünnung als 1 : 100 lieferten bei der Injektion negative Resultate.

Die Eigenart, daß trotz der verschiedensten Versuche nie eine Immunität nachzuweisen war, führte uns zu der theoretischen Frage, ob bei dieser Krankheit nicht eine Einkeimdisposition vorliegt, die zwar für filtrierbare Vira nicht sicher festgestellt werden kann. Unter der Einkeimdisposition versteht man die Eigenschaft, daß ein spezifischer Keim, empfänglich für ein spezifisches Tier, das Tier zum Erkranken bringt, daß also trotz der geringen Anzahl an Erregern keine Immunität eintritt, sondern das Tier erkrankt. Auch die Ergebnisse unserer Einzelversuche entsprachen stets der Form des „Alles oder Nichts", entweder erkrankten die Tiere und starben, oder sie blieben gesund. Eine Immunität gab es nicht.

Aehnliche Bedingungen fanden Doerr und Gold durch ihre Untersuchungen bei der Hühnerpest, die ebenfalls durch ein durch Berkefeld-Kerzen filtrierbares Virus verursacht wird.

Versuch eines näheren Lokalisationsnachweises des Virus im Blut

Nachdem sich die Lokalisation durch die Filtrationsversuche im Blut als sicher erwiesen hatte, untersuchte ich weiter, ob es an die festen Bestandteile oder an das Plasma gelagert sei.

Zu diesem Zweck versetzte ich 0,1 ccm Blut des schwer kranken Vogels 58 mit 10,0 ccm aqua redest. ster. und spritzte davon je 0,3 ccm den Vögel 65 und 64 in der üblichen Weise ein, um zu kontrollieren, ob das Virus überhaupt virulent ist.

Weitere 0,1 ccm Blut versetzte ich mit 4,9 ccm isotonischer Kochsalzlösung und mit 0,05 ccm Natrium-Citrat-Lösung, um die Gerinnung zu verhindern. Diese Blut-Kochsalz-Natrium-Citrat-Lösung schleuderte ich in einer Zentrifuge aus, wobei sich deutlich zwei Schichten absetzten, oben das klare Plasma, unten das Sediment, bestehend aus den festeren Formelementen des Blutes. Das Sediment selbst wurde noch dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert, jedesmal 15 Minuten lang. Das zuletzt gewonnene Sediment wurde mit 1,0 ccm isotonischer Kochsalzlösung zur entgültigen Injektion bereitet.

Von dem Plasma wie von der Aufschwemmung des Sediments wurden den Vögeln 61, 62, 63 und 64 je 0,5 ccm in die linke Brustmuskulatur eingespritzt. Sämtliche Vögel starben mit den charakteristischen Erscheinungen; die mit dem Plasma geimpften am neunten resp. achten Tage, die mit der Sedimentaufschwemmung am zehnten resp. neunten Tage.

Eine nähere Lokalisation des Virus, ob es mehr an das Plasma oder an die Zellelemente des Blutes gelagert sei, war mit dieser Methode jedenfalls nicht möglich. Das Virus findet sich demnach im Serum wie in den Blutkörperchen der erkrankten Tiere.

Uebertragungsversuche auf Sperlinge

Wie aus unserer gemeinsamen Arbeit ersichtlich, versuchte Kikuth das Virus auf Tauben, junge Hühner, Sperlinge und Reisfinken (Orizornis orizivora) zu übertragen. Während die Versuche an den Tauben und jungen Hühnern, die aus Erwägungen heraus gemacht wurden, daß verwandtschaftliche Beziehungen zwischen unserer beschriebenen Krankheit und der Hühnerpest bestehen könnten, negativ ausfielen, ging die Infektion bei den Reisfinken, bei denen Kikuth das Virus sogar spontan vorkommend fand und den Sperlingen an, die zehn bis sechzehn Tage nach der Infektion unter denselben Erscheinungen wie die Kanarienvögel starben.

Für meine Versuche fing ich die Sperlinge selbst in einer aufgestellten Vogelfalle, da die gekauften bei den Vogelhändlern eher mit kranken Kanarienvögeln in Berührung gekommen sein konnten. Ich beobachtete die an die Freiheit gewöhnten Vögel erst vierzehn und mehr Tage im Käfig. Erst wenn sie einen vollkommen gesunden Eindruck machten, infizierte ich sie mit 0,5 ccm Blut, das mit aqua redest.ster. im Verhältnis 1 : 100 verdünnt war. Die von mir geimpften Sperlinge starben ebenfalls zwischen dem zehnten und fünfzehnten Tage mit denselben bei den Kanarienvögeln beobachteten Erscheinungen.

Protokoll

Vogel 45: (Passer domesticus)
wurde am 15. September gefangen.

3. Oktober: Injektion von 0,3 ccm einer Blut-aqua-redest. ster.-Verdünnung von 1 : 100. Das Blut stammte von Kanarienvogel 44, der die ausgeprägten Symptome der Krankheit trug. Der Sperling verträgt die Injektion gut.
5. Oktober: Gelblicher Schimmer an der Brustmuskulatur.
6. Oktober: Brustmuskulatur gelb-grünlich verfärbt. Im Laufe der Tage bis zum 9. Oktober nimmt die Brustmuskulatur eine mehr gelb-blaue Färbung an.
10. Oktober: Brustmuskulatur ödematös und gelb.
13. Oktober: Abwehrbewegungen sehr schwach.
14. Oktober: Brustmuskulatur gelb, ödematös und krustig.
16. Oktober: Vogel apathisch, plustert sich auf. Brustmuskulatur gelb, ödematös und nekrotisch.
17. Oktober: Vogel tot.
Sektion: Außer der veränderten Brustmuskulatur o. B.

Die Krankheit dauerte vierzehn Tage.

Vogel 46: (Passer domesticus).
Stirbt unter ähnlichen Erscheinungen wie Vogel

45 in fünfzehn Tagen.

Vogel 70: (Passer domesticus).

Am 27. Oktober infiziert, stirbt in elf Tagen.

Bei Vogel 59 (Passer domesticus), der ebenfalls mit derselben Verdünnung geimpft wird, geht die Infektion nicht an. Das Tier zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Intracerebralimpfungen des Virus auf Kaninchen und Mäuse

Unter Anleitung von Herrn Oberarzt Dr. Herzberg, dem ich an dieser Stelle meinen ergebensten Dank für die verschiedensten Versuchsanordnungen aussprechen möchte, nahm ich noch Uebertragungsversuche auf Kaninchen und Mäuse vor. Je zwei Kaninchen und Mäuse wurden mit 0,5 ccm einer Blut-aqua-redest.ster.-Verdünnung von 1 : 50 intracerebral geimpft.

Die Tiere wurden zehn Tage lang beobachtet. Sie zeigten in dieser Zeit keinerlei Krankheitserscheinungen, auch tägliche Temperaturmessungen ergaben keine Abweichungen von der Norm.

Nach zehn Tagen wurde je ein Kaninchen und eine Maus getötet, das Gehirn unter aseptischen Kautelen herausgenommen, mit isotonischer Kochsalzlösung zerrieben und aufgeschwemmt.

0,5 ccm dieser Gehirnaufschwemmung spritzte ich zwei Vögeln in der üblichen Weise in die Brustmuskulatur, um festzustellen, ob das Virus seine Wirksamkeit im Säugetierkörper verloren hatte. Die Tiere blieben gesund und zeigten keinerlei Krankheitserscheinungen. Durch eine nachfolgende Impfung der Vögel mit der üblichen Stammlösung (Blut-aqua-redest.ster. 1 : 100) wurde auch hier ein Nichtvorhandensein einer Immunität festgestellt; die Tiere starben am siebenten resp. neunten Tage.

Zusammenfassung

Versuche von Intracerebralimpfungen des Virus in einer Verdünnung von 1 : 50 und damit einer Uebertragung auf Kaninchen und Mäuse fielen negativ aus.

Die Haltbarkeit des Virus

Zur Prüfung der Haltbarkeit des Virus tötete ich am 10. 10. Vogel 53 an seinem zehnten Krankheitstage, entnahm das Blut aus dem Herzen mit steriler Pipette und brachte es mit aqua-redest.ster. auf eine 100 fache Verdünnung. Das verdünnte Blut verschloß ich in sterilen Ampullen, die im Eisschrank aufbewahrt wurden. Gleichzeitig wurde zur Kontrolle, ob das Virus auch wirksam ist, Vogel 58 mit einem Rest von 0,3 ccm geimpft, der am siebenten Tage mit den charakteristischen Erscheinungen starb.

Am 8. 1. 32, nach zwei Monaten, öffnete ich die erste Ampulle und infizierte Vogel 86 mit einer Dosis von 0,5 ccm des Inhaltes. Er starb elf Tage nach der Infektion mit dem geschilderten Erscheinungen.

Am 24. 1. 32 infizierte ich einen weiteren Vogel 87 mit 0,5 ccm des Inhaltes einer zweiten Ampulle. Auch hier erwies sich das Virus noch wirksam. Das Tier starb am fünfzehnten Tag mit den charakteristischen Erscheinungen.

Am 24. 2. 32, nachdem die Ampullen fast drei Monate im Eisschrank gelegen hatten, impfte ich Vogel 89 mit 0,5 ccm des aufbewahrten Virus. Als am zwölften Tage die Krankheitserscheinungen ausgesprochen waren, tötete ich das Tier und verdünnte 0,3 ccm des steril gewonnenen Blutes mit 5,0 ccm aqua redest.ster., um mit 0,5 ccm dieser Lösung zwei weitere Tiere zu infizieren. Die Tiere erkrankten und starben am siebenten resp. am neunten Tage.

Das Virus hatte also seine Wirksamkeit nach drei Monaten nicht verloren. Eine Weiterinfektion ist dann noch bequem möglich.

Gegen Temperaturen erwies sich das Virus nicht als sehr resistent. Schon eine Stunde Erhitzen im Wasserbad bei 60° genügt, um die Infektionsfähigkeit des Virus mit Sicherheit zu zerstören.

Differentialdiagnose

Bei der Sichtung der Ergebnisse kam in differentialdiagnostischer Hinsicht Geflügelpest und ein von Maggiora und Valenti bei der Amsel gefundenes Virus in Betracht. Die hohe Pathogenität des Kanarienvogelvirus und der letale Ausgang der Krankheit sprachen in gewissem Sinne für Geflügelpest. Der abweichende klinische Verlauf, namentlich das Fehlen irgendwelcher Nebenerscheinungen von Seiten des Zentralnervensystems, sowie das apathogene Verhalten des Virus gegenüber dem Huhn, ließen aber mit ziemlicher Sicherheit Geflügelpest ausschließen. In aetiologischer Beziehung bestehen weitgehende Uebereinstimmungen mit einem von Maggiora und Valenti beschriebenen Virus. Auch das pathologisch-anatomische Bild nach intramuskulärer Injektion an der Brustmuskulatur ist bei beiden Virusarten sehr ähnlich. Ob verwandtschaftliche Beziehungen zwischen beiden Vira vorliegen, konnte ich letzten Endes nicht unterscheiden, da mir der biologische Vergleich fehlte. Inzwischen ist eine Arbeit von Burnet erschienen, der mit unserem Kanarienvirus weitere Untersuchungen durchgeführt hat und einwandfrei nachweisen konnte, daß das Virus zur Gruppe der Geflügelpocken gehört. Nach den Filtrationsversuchen von Burnet und mit Hilfe der Ultraviolettphotographie, die von Bernard durchgeführt wurde, ist die Teilchengröße des Virus ungefähr 0,15 u.

Nach den Untersuchungen von Bechhold und Schlesinger mit Hilfe der von diesen Autoren beschriebenen Zentrifugierungsmethode besteht der Teilchendurchmesser des Virus nur 0,12 u.

Die von Burnet beobachteten Zelleinschlüsse im Epithel und in der Subkutis zeigen weitgehende Uebereinstimmungen mit den bei Geflügelpocken nachweisbaren Geflügelkörperchen. Wurde das Virus auf Hühner und Tauben überimpft, so konnten nur unspezifische histologische Veränderungen nachgewiesen werden. Von drei verschiedenen Geflügelpockenstämmen erwies sich einer, nämlich der Stamm „Dallung" auch für Kanarienvögel hoch pathogen und erzeugte bei diesen Tieren dieselben histologischen Veränderungen, wie sie beim Kanarienvirus beobachtet werden können. Es besteht demnach gegenseitig kein Zweifel, daß das von Kikuth gefundene Virus bei Kanarienvögeln zur Gruppe der Geflügelpocken gehört, obgleich es durch abweichenden klinischen Verlauf und hohe Pathogenität andererseits doch eine Sonderstellung einnimmt.

Zusammenfassung

Das von Kikuth bei Kanarienvögeln als Mischinfektion mit Vogelmalaria gefundene Virus besitzt bei intramuskulärer Ueberimpfung eine hohe Pathogenität. Alle geimpften Tiere sterben innerhalb von 8 bis 12 Tagen. Die klinischen Symptome sind wenig charakteristisch. Erst 3 bis 4 Tage vor dem Tode machen die Tiere einen schwerkranken Eindruck. An der Injektionsstelle in der Muskulatur treten ganz charakteristische mikroskopisch sichtbare degenerativ nekrotische Veränderungen auf. Die Temperatur zeigt während des Krankheitsverlaufs keine Abweichung von der Norm, erst kurz vor dem Tode treten ausgesprochene Untertemperaturen auf. Im Blutbild treten neben einer mäßig gesteigerten Poly-

chromasie gelegentlich eigenartige Gebilde auf, deren ursächlicher Zusammenhang und aetiologische Bedeutung noch nicht geklärt ist, die aber doch mit der Infektion in gewissem Zusammenhang zu stehen scheinen. Sehr wahrscheinlich gehen sie aus krankhaft veränderten Blutelementen hervor. Der Nachweis der Filtrierbarkeit des Virus gelang mit Berkefeld-N-Kerzen. Diesbezügl. Versuche mit Seitzfiltern fielen negativ aus. Das Virus ist noch in einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 infektiös und kann bis zu drei Monaten im Eisschrank aufbewahrt werden, während es bei einer Temperatur von 60° wenig resistent ist. Eine Uebertragung auf Tauben, Kücken, Hühner gelang nicht. Dagegen konnten Sperlinge intramuskulär infiziert werden, wobei diese die gleichen charakteristischen Krankheitserscheinungen zeigten wie die Kanarienvögel. Versuche, Kaninchen und Mäuse intracerebral zu infizieren, gelangen nicht. Nach Untersuchungen von anderer Seite (Burnet) gehört das von Kikuth gefundene Kanarienvirus zur Gruppe der Geflügelpocken.

Schrifttum:

Bechhold, H. und Schlesinger M.
Die Teilchengröße des Erregers der Kikuth-Gollubschen Kanarienvogelkrankheit.
Zeitschr. für Hyg. u. Infekt. 1933 Bd. 113 S. 354.

Burnet F. M.
A virus disease of the canary of the fowl pox group.
Journ. Path. and Bacteriol. 1933 Vol. 37 S. 107.

Kikuth W. und Gollub H.
Versuche mit einem filtrierbaren Virus bei einer übertragbaren Kanarienvogelkrankheit.
Zentr. Bakt. Orig. I 1932, Bd. 125 S. 313.

Lebenslauf

Am 26. Iuni 1906 wurde ich, H e i n z G o l l u b als Sohn des Rektors Paul Gollub, in Königsberg i. Pr. geboren. Ich besuchte in Jauer in Schl. bis zum Herbst 1918 das humanistische Gymnasium, um dann in das Realgymnasium in Berlin-Oberschöneweide umgeschult zu werden, woselbst ich im März 1926 die Reifeprüfung bestand. Am 15. 4. 1926 wurde ich an der Friedrich-Wilhelms-Universität in Berlin immatrikuliert, um Medizin zu studieren, und bestand am 1. 11. 1928 das Tentamen physicum. In Düsseldorf an der Medizinischen Akademie, an der ich seit Oktober 1930 während meiner weiteren klinischen Semester weilte, bestand ich am 5. 8. 1932 das Staatsexamen. Vom 17. 8. 1932 bis zum 31. 3. 1933 arbeitete ich als Medizinal-Praktikant in Waldenburg in Schl. am dortigen Knappschaftslazarett an der Inneren Station, um für den Rest meines praktischen Jahres und bis auf weiteres am Anatomischen Institut der Universität Marburg mit der Verwaltung der I. planmässigen Assistentenstelle beauftragt zu werden.